

## 【概要】

新型コロナウイルスに対する mRNA ワクチンは、未感染者において獲得免疫を誘導する。しかし、ワクチン接種者における初期の抗体反応の動態は、まだ十分に理解されていない。我々は、103 人の未感染者と 5 人の既感染者を含む 108 名の医療従事者を対象に、BNT162b2 mRNA ワクチン（ファイザー社/バイオンテック社）を接種し、液性免疫の動態を解析した。ワクチン接種前後で毎週あるいは毎時採血し、合計 763 本の血液サンプルを得た。抗スパイク抗体（抗 S 抗体）および抗ヌクレオカプシド抗体（抗 N 抗体）の血清学的解析を行った。未感染者では、初回接種の 3 週間後（2 回目接種の直前）に抗 S 抗体の血清陽転化が観察され、4 週間後（2 回目接種の 1 週間後）には顕著なブースト効果が認められた。既感染者では、抗 S 抗体が接種後 1 週目に顕著に上昇し、2 回目接種後にはさらに抗体価の上昇が認められた。既感染者 1 名において毎日採血を行い抗体値を測定したところ、初回接種後 96 時間（4 日）より抗体価の上昇が認められた。BNT162b2 mRNA ワクチンは、年齢・性別を問わず、液性免疫の活性化を誘導していた。強力な免疫反応のブースト効果は、ウイルスに暴露した後に免疫反応を誘導し、ウイルスの複製を抑制し、疾患の重症度を軽減する可能性を示唆している。

## 【結果】

### 未感染の医療従事者における抗体価の推移

BNT162b2 mRNA ワクチン投与後の未感染医療従事者（103 名）の抗体価の動態を調べるため、ワクチン接種前（ベースライン）、初回投与後 1, 3, 4, 5, 6, 7 週目に連続的に採血を行った（図 1A）。感染歴のない医療従事者は、ベースライン時およびワクチン接種 1 週間後の抗 S 抗体はすべて陰性であり、増加は認められなかった（図 2A, C）。ワクチン接種後 3 週目に 100%（103/103 名）が血清陽転化を示したが、抗体価は比較的低かった（中央値 57 U/mL、範囲 2~991 U/mL）（図 2A, C）。抗 S 抗体の抗体価は接種 3 週間後（1 回接種時）にベースラインと比較して中央値で 138.3 倍（範囲：4.9~2477.5 倍）と増加した。

特に、2 回目の投与から 1 週間後に抗 S 抗体価の顕著な上昇効果が認められた（中央値 2177 U/mL、範囲：108-9545 U/mL、図 2A, C）。さらに 4 週間後では、3 週間後に比べて 35.8 倍（中央値：1.6~436.4 倍）増加した。ブースト効果（4 週間と 3 週間の比）には年齢群間で有意差は認められなかった（図 2B、 $p=0.25$ 、Kruskal-Wallis 検定）。抗体増加量の中央値は、20 代で 54.6 倍（範囲：2.6~218.8 倍）、30 代で 29.6 倍（範囲：3.0-73.9 倍）、53.9 倍、50 代で 61.4 倍（範囲：10.5~436.4 倍）、60 代以上で 63.9 倍（範囲：6.5~262.1 倍）であることがわかった。さらに、抗 S 抗体価の上昇には、女性と男性で有意差はなかった（それぞれ 31.2 倍と 37.0 倍）（図 2D、 $p = 0.99$ 、Student's t-test）。抗 S 抗体価は、感染していない医

療従事者の 98% (4 週間では医療従事者の 66% [68/103 名], 5 週間では医療従事者の 32% [33/103 名]) で 4~5 週間でピークとなった (図 2A, C). その後, 抗 S 抗体価は 6 週目および 7 週目に低下し始めた. 予想通り, 抗 N 抗体は感染していない医療従事者のすべてで試験期間中検出されなかった. 以上の結果より, BNT162b2 mRNA ワクチンの 2 回目の接種により, 年齢や性別に関係なく抗 S 抗体価の顕著な上昇が認められた.

### 年齢と性別による初期抗体反応の違い

次に, ワクチン接種後の初期抗体反応の差が年齢や性別に関連しているかどうかを検討した. BNT162b2 mRNA ワクチン初回接種後 1 週間および 3 週間後の抗 S 蛋白質抗体価には年齢による有意差はなかった (図 3A). しかし, 4 週間後以降 (2 回目の接種後) の抗体価は, 60 代に比べて 20 代のほうが有意に高かった (図 3A, 4 週間で  $p=0.01$ , 5 週間で  $p=0.04$ , 6 週間で  $p=0.007$ , pairwise t-tests with Bonferroni adjustment).

初回投与後 1 週間から 4 週間までの抗 S 蛋白質抗体価には, 性別による有意差は認められなかった (図 3B). 一方, 5 週目から 7 週目までは女性で高い抗体価が観察された (5 週目で  $p=0.02$ , 6 週目で  $p=0.04$ , 6 週目で  $p=0.06$ , Student's t-test) (図 3B). このように, ワクチン接種後の抗 S 蛋白質抗体価は, 若年と女性でやや高いことが確認された.

さらに年齢や性別による統計的な有意差があるかどうかを検討するために, 層別解析を行った. 前述のとおり, 全体解析では 20 歳代と 60 歳代で差が認められた (図 3A). 一方で, 性別で層別すると有意な差は認められなかったが, 女性でも男性でも 20 代が 60 代より常に高い傾向が認められた.

また, 全体解析では, 女性の方が男性よりも抗体価が高い傾向が見られたが (図 3B), 層別解析では, ほとんどの比較群で有意差は見られなかった. これらのデータから, ワクチン接種や感染によって生じた抗体価は年齢や性別によって多少異なるものの, ブースト効果はすべての医療従事者で同様であることが示された.

### 既感染の医療従事者における抗体反応の動態

4 名の既感染医療従事者を対象に, ベースラインと BNT162b2 mRNA ワクチン初回接種後 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 週目の抗 S 抗体の抗体価の動態を調べた (図 1A, 4A, B; 症例 #1 は COVID-19 症状が中程度, 症例 #2, #3, #4 は症状が軽度). 既感染の医療従事者は, ベースライン時の抗 S 価はすべて血清陽性であった (中央値: 142 U/mL, 範囲: 38~1941 U/mL) (図 4). 顕著なブースト効果は, すべての既感染医療従事者において初回投与後 1 週間という早い段階で認められた (図 4A). 1 週間後の抗体価はベースラインと比較して中央値で 57.9 倍 (範囲: 11.6~168 倍) 増加した. その後, 1 週間から 4 週間にかけて抗体価はわずかに低下傾向を示したが, 2 回目の投与でさらなる抗体価の上昇が確認された (図 4A). 4 週間後の抗体価は 3 週間後に比べて中央値で 2.5 倍 (範囲: 1.7~4.4 倍) に上昇した. また, 中等度の重症度を示した 1 名 (#1) では, ワクチン接種後の抗体価の上昇が劇的に大きか

った (1914 U/mL→49500 U/mL) (図 4A)。

抗 S 抗体価は、未感染者と同様に、2 回目のワクチン接種後、6 週目および 7 週目に低下傾向を示した (図 4A)。抗 N 抗体価は試験期間中ですべて陽性であり、わずかに減少傾向を示した (図 4B)。これらの結果から、既感染者において、BNT162b2 mRNA ワクチンの初回接種後 1 週間以内に強固なブースト効果が認められた。

### 既感染医療従事者における迅速な抗体応答

前述のように、既感染医療従事者では、最初のワクチン投与後 1 週間以内に強い体液性応答が生じた (図 4A)。そこで、さらに詳細な検討を行うため、より早期の段階から採血を行い (初回接種後 6、12、24、48、72、96、120、144、168 時間)、既感染者 (症例 #5) の抗 S 抗体の上昇タイミングを調べた (図 1B)。ベースラインと比較して、抗 S タンパク質抗体価は 6 時間から 72 時間まで変化しなかった (範囲: 223 U/mL to 264 U/mL) (図 4C)。しかし、抗体価は初回投与後 96 時間 (4 日目) に上昇し始め、その後急激に上昇した (図 4C)。このことから、既感染者では、極めて早期にメモリー B 細胞が活性化され、抗 S 抗体が産生されることが示唆された。

### 【考察】

これまでの研究で、COVID-19 mRNA ワクチンが未感染者および既感染者において免疫反応を引き起こすことが示されたが、年齢や性別で層別した特定の時点における迅速な免疫反応のタイミングを解明した研究はほとんどない。本研究では、BNT162b2 mRNA ワクチン接種前後の医療従事者の連続血液試料を分析した。得られた知見は、年齢や性別に関係なく、すべての人にワクチン接種後にブースト効果が発生したことであった。また、未感染の医療従事者では、2 回目接種直前と比較して 2 回目接種 1 週間後にさらに抗体価の上昇が確認された。さらに、時間ごとのサンプリングにより、既感染者では初回接種後 96 時間 (4 日目) からブースト効果が観察された。このように、BNT162b2 mRNA ワクチンは、感染時に誘導される免疫記憶の獲得と極めて迅速なブースト効果により、高いレベルの感染防御効果を発揮することが期待される。BNT162b2 mRNA ワクチンは、以前にメモリー B 細胞の活性化を引き起こすことが証明されている。今回の研究の結果から、観察された強固で迅速な抗体反応は、治療効果をもたらすだけでなく、感染に対する防御にも十分である可能性があると推測することができた。96 時間以内に高力価の抗体が出現すれば、肺胞上皮におけるウイルスの複製を阻害し、COVID-19 の症状を最小限に抑えることができるかもしれない。

興味深いことに、未感染の医療従事者と既感染の医療従事者の間で、ブースト効果の動態が類似していた。未感染の医療従事者では、初回接種後に体液性免疫が獲得されるが、そのレベルは低く、2 回目接種後の最初の 1 週間でブースト効果が認められた。また、高齢者と若年者では、ブースト効果が同程度であることも重要な知見であった (図 2B)。このようなブースト効果は、COVID-19 の接種を受けた人であれば自然感染時にも起こると予想される。

また、既往感染者では、S タンパク質に対する免疫記憶があるため、初回接種後 1 週間程度でブースト効果が認められた。既往感染者では、2 回目のワクチン接種後に抗体価がわずかに上昇しただけであり (図 4A)、強固な抗体反応を誘導するためには 1 回のワクチン接種で十分である可能性が示唆された。したがって、COVID-19 ワクチンへのアクセスが限られている状況では、既往感染者に 1 回接種することでワクチンの節約につながると期待できる。

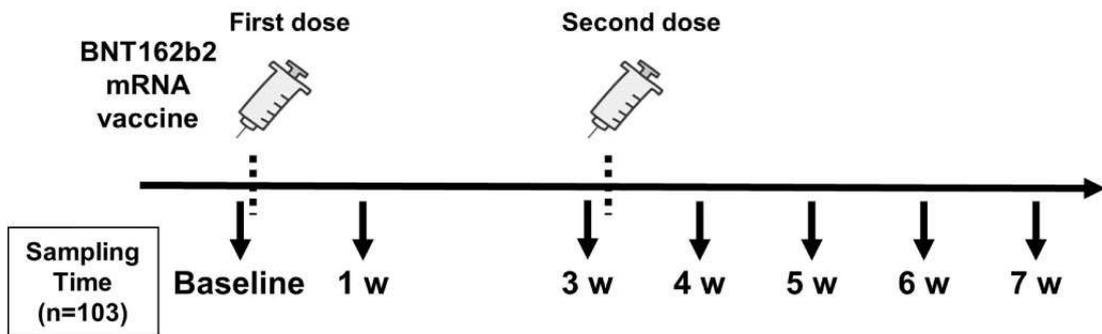
本研究は、年齢や性別が抗体反応の違いに影響を与える可能性を提示している。特に、全体解析と層別解析では、年齢が抗体価に影響を与えることが示された。性別については、全体解析では女性で高い傾向が見られたが、層別解析では明確な差は見られなかった。以前の報告で、高齢者では抗体価が低いことが示されている。これが事実であれば、高齢者ではワクチン接種後時間が経過すると抗体価の低下が顕著になり、追加接種を検討すべき状況になる可能性が示唆される。

また、本研究のもう一つの大きな発見は、比較的短い試験期間中にすでに抗体価の低下傾向が観察されたことである。このことから、数カ月から数年のうちに抗体価が低レベルに低下する可能性が考えられる。したがって、将来の感染を予防するための抗体の持続性については懸念がある。この問題を明らかにするためには、BNT162b2 mRNA ワクチンや他の種類のワクチンを受けたより多数の個人を、より長期間にわたって前向きに追跡調査する必要がある。

この研究にはいくつかの限界がある。まず、過去に感染した医療従事者の解析対象数が少なく (n=5)、全員が 20 代から 30 代の若年であった。既往感染者において 1 週間以内に抗体反応が起こるという確証を得るためには、さらなるデータの蓄積が必要であると考えられる。次に、本研究では中和抗体の測定は行わず、Elecsys Anti-SARS-CoV-2 assay (Roche Diagnostics 社) を用いて抗 S 抗体および抗 N 抗体の総抗体価を測定した。このアッセイで求めた抗 S 抗体価は抗体中和能と関連するが、より正確に評価するためには中和抗体のレベルを調べる必要がある。第三に、年齢による抗体価の違い、性別による抗体価の違いについて、より多くのデータが必要である。未感染者の医療従事者の抗体価は、グループ全体を分析した場合、60 代よりも 20 代、男性よりも女性で高いという有意差が認められた (図 3A、B)。しかし、それぞれのデータを性別と年齢層で調整した層別解析では、統計的に有意な差は得られなかった。その理由として考えられるのは、サンプルサイズが小さく、調整による層別解析では有意差を出すための統計的検出力が得られなかったことである。したがって、今回の知見は予備的なデータと考えるべきであり、今後、さらに症例を増やして検証する必要がある。

以上より、BNT162b2 mRNA ワクチンの接種を受けた医療従事者において、早期の抗体反応と顕著なブースティング効果が確認された。また、過去に感染した医療従事者において、初回接種後 96 時間 (4 日間) という早い段階で抗体反応が発現することが示された。自然感染においても同様の短期間のブースト効果が生じ、ウイルスの複製を効果的に抑制して感染を鈍化させ、重症化するリスクを低減させる可能性がある。

## A Infection naïve HCWs (n=103)



## B Previously infected HCWs (n=5)

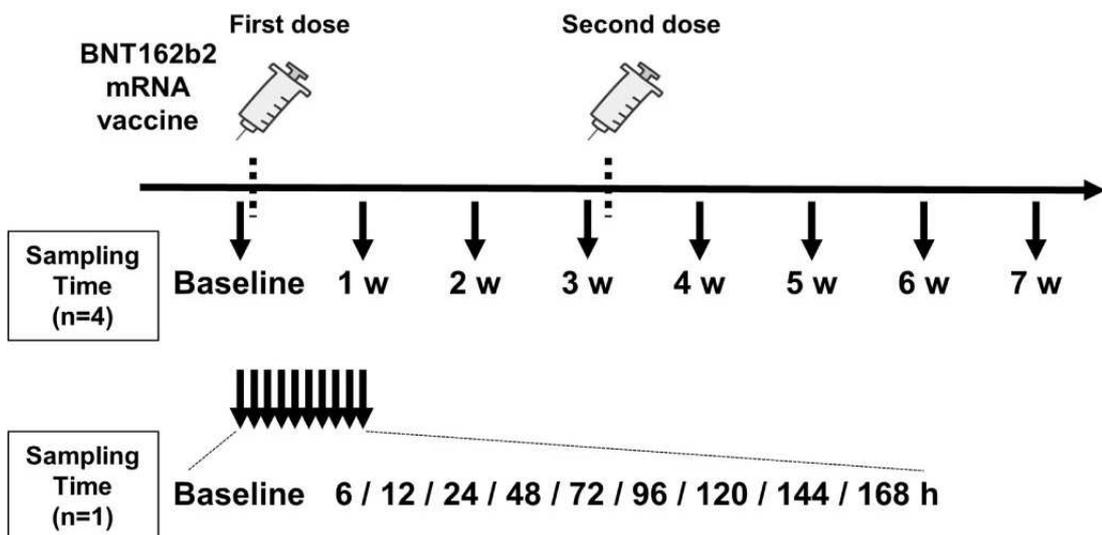


図1 ワクチン接種と血液サンプル採取のタイミング

(A) 感染していない医療従事者 (HCW) 103 人の採血のタイミング。(B) 感染既往のある医療従事者 5 名の採血のタイミング。4 人の HCW から週単位で (上)、1 人の HCW から時間単位で (下) 採血された。BNT162b2 mRNA ワクチンの 2 回接種のタイミングを点線で示す。矢印は採血のタイミングを示す。血液サンプルは 1 回目のワクチン接種前 (ベースライン) と 2 回目のワクチン接種直前 (3w) に採取した。

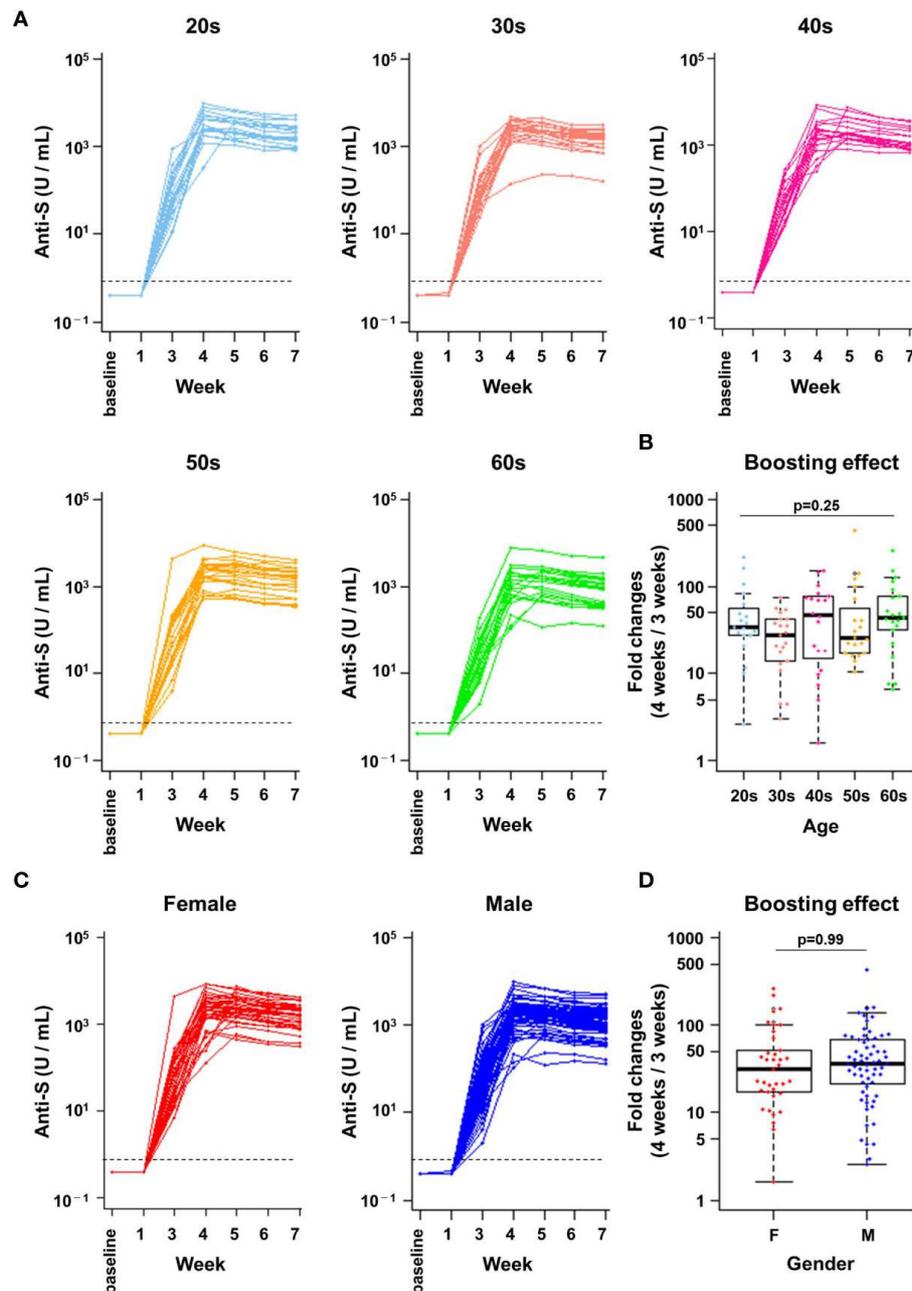


図2 年齢、性別を問わず、2回目のワクチン接種後に強固なブースト効果が確認された (A, C) 感染していない医療従事者 (n=103) における抗スパイク (S) タンパク質抗体価。ベースラインから初回接種後7週間までの抗体価の推移 (U/mL) を示す。年齢層別 (A) および性別 (C) のデータを示す。点線はカットオフ値 (0.8U/mL) を示す。(B, D) 2回目のワクチン接種前後のブースト効果。2回目接種直前 (3週間) および1週間後 (4週間) の抗体価の比率を示す。年齢層別 (B)、性別 (D) のデータを示す。年齢群間 ( $p = 0.25$ , Kruskal-Wallis test)、性別間 ( $p = 0.99$ , Student's t-test) で統計的に有意な差は見られなかった。F, 女性; M, 男性。

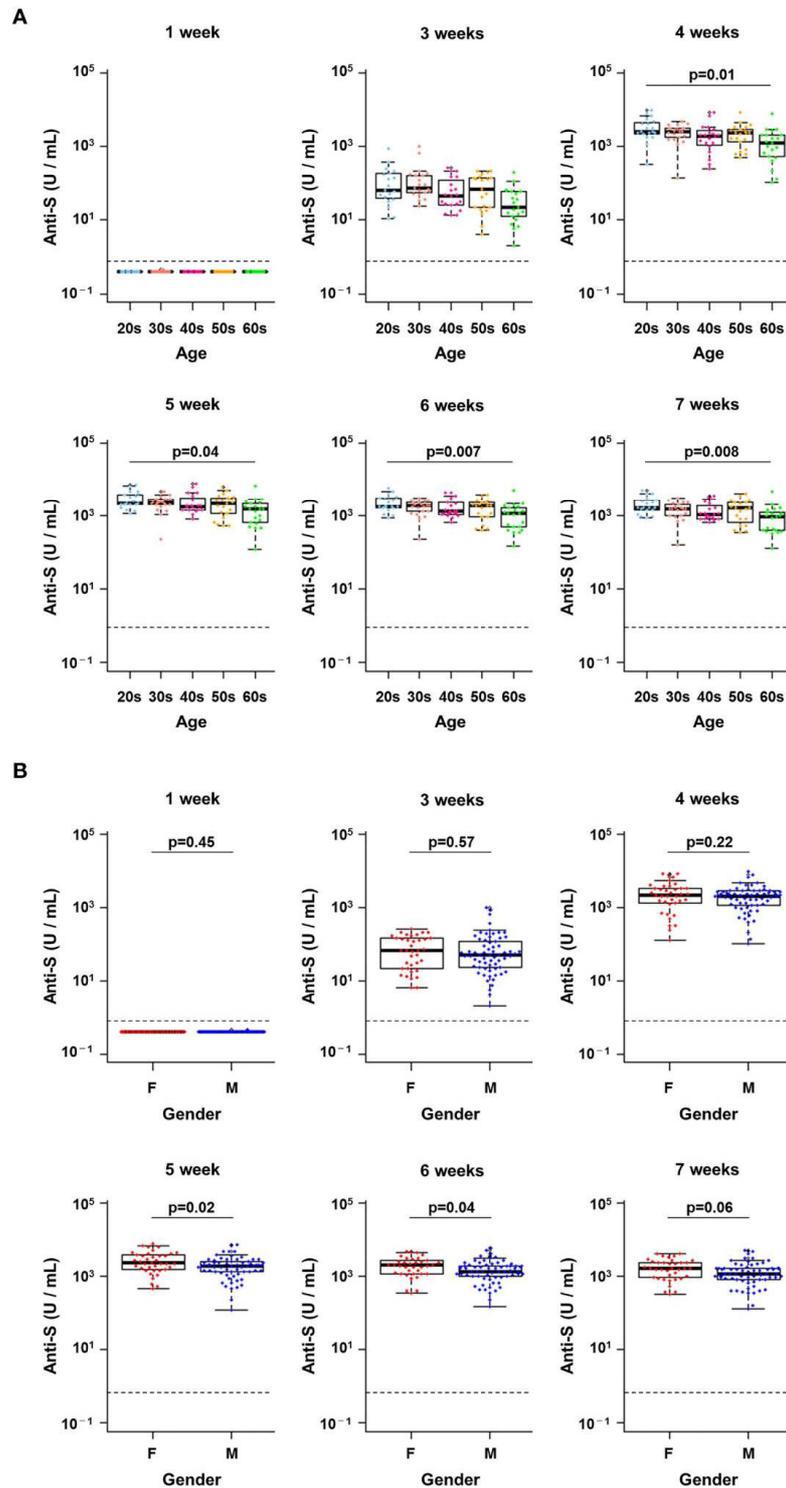


図3 感染症未治療の医療従事者のワクチン接種後各週における抗体価の変化

(A、B) 初回ワクチン接種後1週目から7週目までの抗スパイク(S)抗体価の年齢群別(A)、性別(B)の変化。年齢群間の多重比較検定には、Bonferroni補正した pairwise t-test を行った。女性(F)と男性(M)の間の統計解析には Student's t-test を実施した。点線はカットオフ値(0.8 U/mL)を示す。

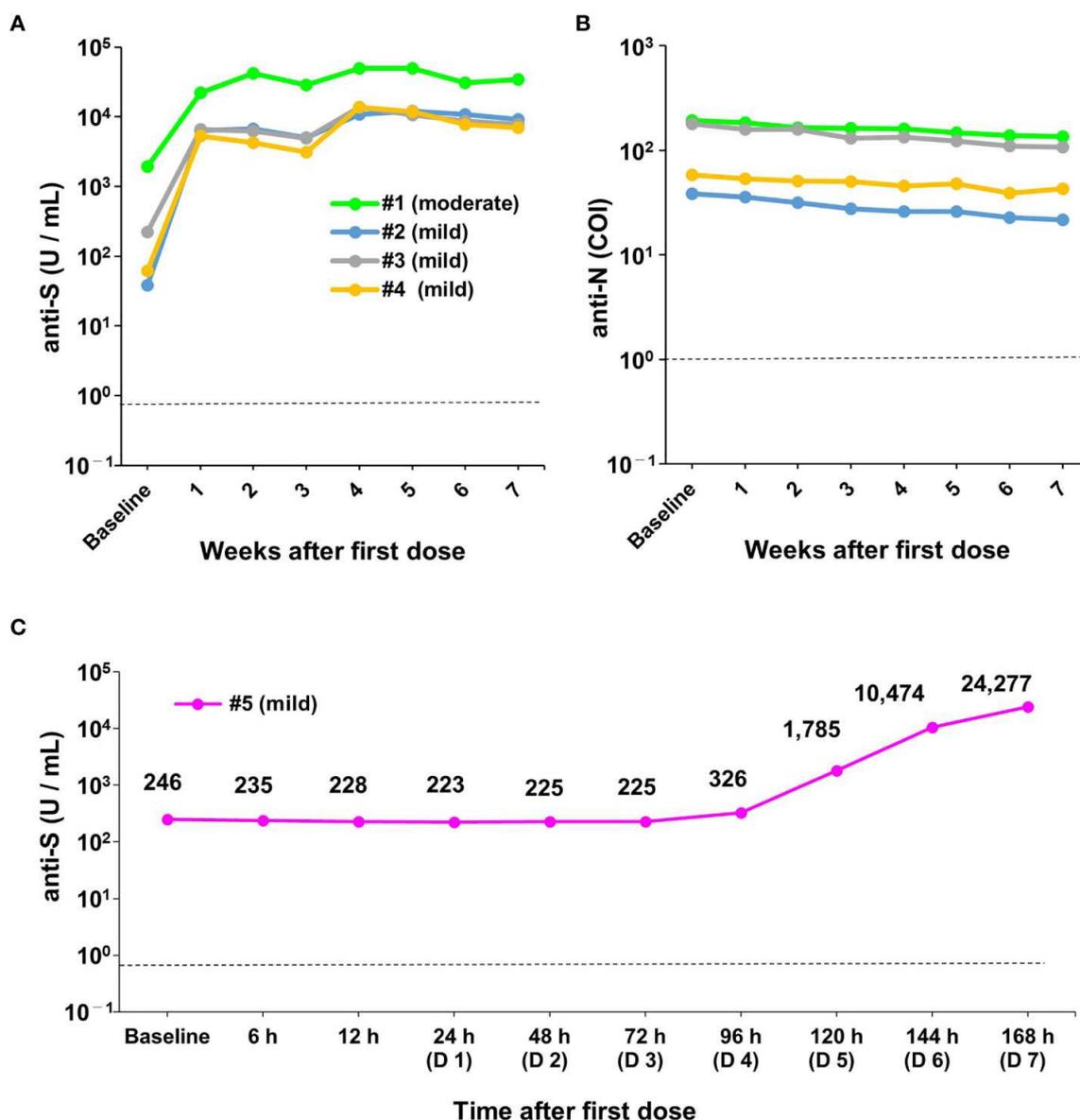


図4 既感染医療従事者におけるワクチン後の体液性免疫反応

(A, B) 過去に感染した医療従事者 (HCW) (n=4) における、初回ワクチン接種後の週単位 (1~7 週目) での抗体価の変化。データは、抗スパイク (S) 抗体価 (A) および抗ヌクレオカプシド (N) 抗体価 (B) の変化を示す。前回の感染時、4 人の医療従事者のうち 1 人は中程度の症状 (#1)、3 人は軽度の症状 (#2、#3、#4) であった。(C) 過去に感染した医療従事者 1 名 (#5) のワクチン初回投与後の時間ごとの抗体価の変化。前回感染時、この医療従事者は軽度の症状であった。COI, カットオフインデックス; h, 時間; D, 日。点線はカットオフ値 (抗 S 抗体 : 0.8U/mL、抗 N 抗体 : 1.0 COI)。